

KARAKTERISTIK GELATIN KULIT IKAN TUNA SIRIP KUNING

Mala Nurilmala*, Agoes Mardiono Jacob, Rofi Ahmad Dzaky

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Bogor 16680 Jawa Barat Telepon (0251)
8622909-8622906, Faks. (0251) 8622915

*Korespondensi: mnurilmala@ipb.ac.id

Diterima: 17 Maret 2017/ Disetujui: 25 Juli 2017

Cara sitasi: Nurilmala M, Jacob AM, Dzaky RA. 2017. Karakteristik gelatin kulit ikan tuna sirip kuning. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(2): 339-350.

Abstrak

Gelatin merupakan produk yang banyak diperlukan dalam berbagai industri, yaitu industri pangan maupun non-pangan. Penggunaan gelatin yang sangat luas menyebabkan kebutuhan gelatin Indonesia selalu mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Hingga saat ini, belum terdapat industri gelatin dalam negeri, sehingga perlu penelitian tentang sumber gelatin, terutama dari limbah perikanan. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan ekstraksi gelatin kulit ikan tuna sirip kuning dengan perlakuan suhu (55, 65 dan 75 °C). Sifat-sifat gelatin yang diteliti yaitu rendemen, pH, kekuatan gel, viskositas, analisis gugus fungsional, bobot molekul, dan komposisi asam amino. Suhu ekstraksi 75 °C adalah perlakuan terpilih. Perlakuan tersebut mempunyai rendemen sebesar 17%; pH 5,3; kekuatan gel 1789,55 gf; viskositas 104,2 Cp. Gugus fungsi pada perlakuan tersebut terdapat amida A, I, II, dan III. SDS-PAGE menunjukkan pita β , $\alpha 1$ dan $\alpha 2$. Komposisi asam amino utama yaitu glisina dan prolina.

Kata kunci: asam amino, histologi, suhu, SDS-PAGE

Characterization of Fish Skin Gelatin Yellowfin Tuna

Abstract

Gelatin is one of the products which become a necessity for various industries, i.e. food and non-food industries. The application of gelatin has been increasing year by year in Indonesia. However, there is no gelatin industry in Indonesia so far. Thus, it is necessary to find an alternative source of gelatin, especially from fishery by products. Thus, the purpose of this research was to extract fish skin gelatin of yellowfin tuna with temperature treatments (55, 65 and 75 °C). In addition, the properties of resulted gelatin were determined including yield, pH, gel strength, viscosity, functional groups, molecular weight profiles, and amino acid composition. The extraction at 75 °C was chosen as the best result. The yield was 17%; pH 5.3; gel strength 1789.55 gf, viscosity 104.2 Cp, respectively. There was functional group amide A, I, II, dan III. SDS-PAGE showed β , $\alpha 1$ dan $\alpha 2$ bands for tuna skin gelatin. In addition, the main amino acids were glycine and proline.

Keywords: amino acid, histology, temperature, SDS-PAGE

PENDAHULUAN

Ikan tuna sirip kuning merupakan komoditas ekspor utama bagi Indonesia. Lokasi penyebarannya di Indonesia terletak pada laut Barat Sumatera, Selatan Jawa, Selat Malaka, Timur Sumatera, Utara Jawa, Bali-Nusa Tenggara Timur, Kalimantan, Selatan Sulawesi, Utara Sulawesi dan Maluku-Papua. Nilai produksi tuna yang terus mengalami peningkatan dari tahun 2004 sebesar 112.796 ton (KKP 2015a) hingga tahun 2015 menjadi

167.800 ton (KKP 2015b). Ikan tuna pada umumnya dipasarkan sebagai produk segar (didinginkan), bentuk loin (*frozen loin*), filet (*frozen fillet*), steak (*frozen steak*) dan produk dalam kaleng (*canned tuna*) (KKP 2014). Kesegaran ikan tuna biasanya diukur dari profil protein myoglobinnya. Nurilmala *et al.* (2013) melaporkan karakterisasi myoglobin dapat dilakukan dalam penentuan kesegaran ikan tuna. Produk-produk tuna tersebut menghasilkan limbah berupa

tulang dan kulit. Limbah tulang dan kulit tuna pada beberapa industri masih belum dimanfaatkan dengan baik, contohnya pada industri tuna loin di Bitung, Sulawesi Utara (Agustin 2013). Limbah kulit tuna tersebut hanya dimanfaatkan untuk pakan ternak. Limbah tulang dan kulit hasil industri tuna loin, filet dan sebagainya dapat diolah menjadi gelatin ikan karena mengandung kolagen dalam jumlah besar.

Lombu *et al.* (2015) menyatakan bahwa gelatin merupakan salah satu jenis protein yang banyak diperoleh dari kolagen alami yang terdapat pada kulit dan tulang. Gelatin memiliki sifat khas, yaitu dapat berubah secara *reversible* dari bentuk sol ke gel, mengembang dalam air dingin, dapat membentuk film, mempengaruhi viskositas suatu bahan serta dapat melindungi sistem koloid. Sifat gelatin tersebut membuat kebutuhan gelatin dalam industri pangan maupun non pangan terus meningkat. Gelatin dalam produk pangan sering digunakan sebagai bahan penstabil, pembentuk gel, pengikat, pengental, pengemulsi, perekat dan pembungkus makanan yang bersifat dapat dimakan. Gelatin dalam produk non pangan digunakan dalam industri farmasi dan kedokteran, industri kosmetika dan industri fotografi.

Penggunaan gelatin yang sangat luas menyebabkan peningkatan impor gelatin setiap tahunnya, sampai saat ini kebutuhan gelatin di Indonesia dipenuhi dari produk impor dari negara China, Thailand, Australia, Brazil, Bangladesh dan New Zealand (Nurrachmawati 2015). Gelatin yang diperjual-belikan diseluruh dunia umumnya terbuat dari kulit atau tulang mamalia, terutama babi dan sapi (Sae-Leaw *et al.* 2016). Hal tersebut menimbulkan keraguan terhadap umat Muslim dan Hindu dalam mengonsumsi suatu produk yang menggunakan gelatin. Aewsiri *et al.* (2009) juga menyatakan bahwa yang menyebabkan kekhawatiran konsumsi produk berbahan gelatin yaitu munculnya penyakit *Bovine Spongiform Encephalopathy* (BSE) atau penyakit sapi gila.

Gelatin dapat dibuat dari bahan yang mengandung kolagen, misalnya kulit, sisik, dan tulang. Chen *et al.* (2016) menyatakan bahwa kandungan kolagen pada kulit dan sisik lebih

tinggi dibandingkan tulang. Kelebihan lain pembuatan gelatin dengan bahan baku kulit adalah proses lebih cepat yaitu dengan proses perendaman asam, sedangkan pembuatan gelatin dari bahan baku keras misalnya tulang dan sisik memiliki proses lebih lama dengan perendaman basa (Hastuti dan Sumpe 2007). Ekstraksi gelatin berbahan dasar tulang ikan di antaranya telah dilakukan oleh Hidayat *et al.* (2016), serta telah diaplikasikan dalam pembuatan permen jelly (Eveline *et al.* 2014).

Pemahaman tentang sifat-sifat gelatin dan mikroskopis kulit ikan tuna sirip kuning menjadi hal yang penting karena dapat dijadikan sebagai alternatif gelatin komersial. Pengolahan gelatin dari kulit tuna sirip kuning dapat mengurangi keraguan pada umat Muslim dan Hindu, menghindari resiko penyakit BSE, serta memanfaatkan limbah kulit hasil industri tuna sirip kuning. Pengamatan histologis terhadap kulit dapat menentukan potensi protein kolagen yang merupakan bahan baku pembuatan gelatin secara kualitatif. Penelitian tentang suhu ekstraksi gelatin untuk mendapatkan rendemen yang tinggi serta sifat-sifat gelatin yang memenuhi standar perlu dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melakukan ekstraksi gelatin kulit ikan tuna sirip kuning dengan perlakuan suhu yang berbeda (55, 65 dan 75 °C) dan menentukan karakteristiknya.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan adalah kulit ikan tuna sirip kuning yang telah dibekukan yang diperoleh dari CV Prima Indo Tuna, Makassar, Sulawesi Selatan. Bahan lain yang digunakan yaitu akuades, NaOH teknis, butanol teknis, asam asetat teknis dan gelatin komersial. Alat yang digunakan meliputi *waterbath shaker* (Merk WiseBath made in: Korea model: WSB-30), evaporator, mikroskop Olympus CX41, *software stream start*, timbangan (Fisher Scientific A-160), oven (Yamato), timbangan digital (Quattro), pH meter (HI 2211), Viskometer TV-10 (Toki Sangyo co.ltd), *textur analyzer* (Ta-xt2i *texture analyzer*), *Fourier Transform InfraRed-Bruker*

infrared spectrophotometer (Bruker Tensor 37), *High Performance Liquid Chromatography* (Waters Corporation USA).

Metode Penelitian

Parameter penelitian meliputi pengujian proksimat dan histologi untuk mengetahui kandungan gizi serta menganalisis keberadaan protein kolagen pada kulit tuna sirip kuning. Analisis proksimat dilakukan mengacu pada BSN (2002) meliputi kadar air, lemak, protein, dan abu. Tahap selanjutnya penelitian untuk menentukan suhu ekstraksi optimal terhadap ekstraksi gelatin kulit ikan tuna dan karakteristiknya (rendemen, pH, kekuatan gel, viskositas, jenis asam amino, gugus fungsional, dan berat molekul).

Pengamatan histologi

Pengamatan histologi dengan pewarnaan *masson's trichrome* (Suvik dan Effendy 2012). Irisan jaringan kulit ditempatkan dengan merendam ke dalam larutan xylene selama 4 menit, kemudian direndam dalam larutan Bouin 60 °C selama 45 menit, lalu dicuci dengan air mengalir sampai warna kuning dalam sampel menghilang. Tahap selanjutnya, direndam dalam hematoksin selama 8 menit, setelah itu dicuci dalam air mengalir selama 2 menit, dimasukkan kedalam larutan asam *phosphomolybdic* selama 10 menit sebagai larutan mordant dan irisan direndam selama 5 menit pada *methyl blue* untuk melihat fibroblast dan kolagen. Irisan kulit tersebut dicuci dalam air yang mengalir selama 2 menit dan diberi 1% larutan asam asetat selama 1 menit, lalu dicelupkan ke dalam larutan *xylene* selama 1 menit kemudian diamati menggunakan mikroskop.

Ekstraksi gelatin dengan perlakuan suhu

Ekstraksi gelatin mengacu pada Kittiphattanabawon *et al.* (2016) dengan modifikasi. Ekstraksi gelatin diawali dengan proses perendaman kulit ikan basah (yang berukuran ± 2 cm) dengan larutan NaOH 0,1 M untuk menghilangkan protein non-kolagen. Perbandingan sampel dengan larutan NaOH yaitu 1:10 (b/v). Perendaman dilakukan selama 2 jam pada suhu ruangan dengan

pengadukan, dimana larutan NaOH diganti setiap 40 menit sekali. Kulit ikan tersebut dinetralkan dengan akuades, selanjutnya direndam dengan butanol 10% untuk menghilangkan lemak dengan perbandingan 1:10 (b/v) selama 30 menit pada suhu ruang sambil diaduk, kemudian dinetralkan dengan akuades. Proses selanjutnya yaitu hidrolisis kulit menggunakan larutan asam asetat (CH_3COOH) 0,05 M selama 30 menit sambil diaduk dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:10 (b/v). Sampel dinetralkan dengan akuades, kemudian diekstraksi menggunakan akuades selama 6 jam pada suhu 55 °C, 65 °C dan 75 °C dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:2 (b/v). Hasil ekstraksi yang diperoleh merupakan gelatin cair. Proses selanjutnya yaitu pengeringan dengan mesin evaporator pada suhu 50 °C.

Rendemen

Perhitungan rendemen gelatin mengacu pada (AOAC 1995), yaitu dengan perbandingan berat kering gelatin dengan berat basah bahan baku kulit mentah sebelum ekstraksi gelatin (kulit ikan tuna yang telah dibersihkan dari daging, lemak, dan zat pengotor lainnya).

Analisis pH

Analisis pH mengacu pada (Scrieber dan Garies 2007) yaitu: sampel gelatin kering dilarutkan dalam akuades hingga menjadi larutan gelatin 6,67%; dihomogenkan dengan magnetic stirrer; hidupkan pH meter HI 2211 (Hanna Instruments) dan dibiarkan hingga stabil; elektroda dicelupkan ke dalam sampel selama beberapa saat sampai tercatat angka yang stabil pada monitor pH meter.

Analisis kekuatan gel

Analisis kekuatan gel mengikuti prinsip GMIA (2012), dengan prosedur: larutan gelatin dengan konsentrasi 6,67% disiapkan dengan akuades; ditempatkan pada wadah (diamkan pada suhu 10 °C selama 17 ± 2 jam); diukur dengan *textur analyzer-xt 2i*; *test speed* 1 mm/s; *distance* 10 mm; dan *probe* 0,5 R. Hasil dari pengukuran berupa grafik dan diolah sehingga menghasilkan satuan *gram-force* (gf).

Analisis viskositas

Analisis viskositas mengacu pada Mohtar *et al.* (2010) dengan prosedur: larutkan gelatin kering dalam akuades suhu 60 °C sambil diaduk selama 20 menit hingga menjadi larutan gelatin 6,67%; ukur viskositasnya dengan Viskometer TV-10 (Toki Sangyo co.ltd). Pengukuran dilakukan pada suhu 60 °C dengan laju geser 60 rpm. Hasil pengukuran dikalikan dengan faktor konversi pada spindel yang mengacu pada Brookfield Manual (2002). Nilai viskositas dinyatakan dalam satuan *centipoise* (cP).

Uji *Fourier Transform Infrared* (FTIR)

Analisis FTIR dilakukan mengacu pada Fofid (2014) dengan prosedur: sampel gelatin sebanyak 0,2 g dihaluskan dengan KBr dalam mortar hingga homogen; dimasukkan ke dalam cetakan pellet dan dipadatkan serta divakum dalam mesin pencetak pelet; dimasukkan ke dalam sel dan dimasukkan pada ruang penempatan sel lalu ditembak dengan sinar IR dari spektrofotometer inframerah IR-408 yang sudah dinyalakan pada kondisi yang stabil; pendeteksian menggunakan tombol detektor dan akan dihasilkan rekorder histogram FTIR pada monitor yang menampilkan puncak-puncak/histogram dari gugus fungsi yang terdapat pada sampel. Histogram selanjutnya akan dianalisis untuk memperoleh data kualitatif maupun kuantitatif.

Analisis bobot molekul

Analisis bobot molekul dilakukan mengacu pada metode *Sodium Dodesyl Sulfate-Polyacrilamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE) (Laemmli 1970) menggunakan sampel gelatin dengan 3% stacking gel dan 12,5% separating gel. Pembuatan separating gel dilakukan selama \pm 40 menit, sedangkan pembuatan stacking gel dilakukan selama kurang lebih 2 jam.

Prosedur analisis sebagai berikut: sampel sebanyak 5 μ L dimasukkan ke dalam gel poliakrilamid; elektroforesis dijalankan secara konstan pada arus 10 mA dan voltase 125 volt selama 3 jam; deteksi SDS-PAGE dilakukan dengan melepaskan gel hasil elektroforesis dari cetakan kemudian gel diwarnai dengan *coomasie brilliant blue*; gel diangkat dan direndam selama 1 jam di dalam larutan

pewarna. Proses *destaining* dilakukan hingga pita protein dapat terlihat jelas. Gel yang dihasilkan dianalisis bobot molekul gelatin menggunakan *software Photocapt*.

Analisis asam amino

Analisis asam amino dilakukan mengacu pada Mohtar *et al.* (2010) terhadap sampel dan larutan standar asam amino. Prosedurnya sebagai berikut: sampel gelatin 0,1 gram dilarutkan dengan 5 mL HCl 6N dan divorteks; dihidrolisis selama 22 jam pada suhu 11 °C; didinginkan dan dipindahkan ke labu ukur 50 mL serta ditetapkan hingga tanda batas; disaring menggunakan filter 0,45 μ m; filtrat 500 μ L ditambah dengan 40 μ m α -Aminobutyric acid (AABA) dan 460 μ L akuabides; larutan sebanyak 10 μ L ditambahkan dengan 70 μ L JaccQ-Fluor Borate dan dihomogenkan; ditambahkan dengan 20 μ L *reagent fluor A* hingga homogeny; inkubasi pada suhu 55 °C selama 10 menit; selanjutnya diinjeksi pada bagian HPLC; dilakukan *running* pengujian.

Analisis larutan standar dilakukan dengan mencampurkan 40 μ L standar asam amino dengan 40 μ L internal standar α -Aminobutyric acid (AABA) dan 920 μ L akuabides, kemudian dihomogenkan. Larutan standar sebanyak 10 μ L ditambahkan dengan 70 μ L AccQ-Fluor Borate kemudian dihomogenkan. Larutan ditambahkan 20 μ L *reagent fluor A* hingga homogen kemudian inkubasi pada suhu 55 °C selama 10 menit. Sampel disuntikkan ke dalam HPLC kemudian dilakukan *running* pengujian.

Analisis Data

Analisis data secara statistik mengikuti Steel dan Torrie (1993). Kenormalan data rendemen, pH, viskositas dan kekuatan gel terlebih dahulu diuji berdasarkan uji Kolmogorov Smirnov. Rancangan percobaan yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Proksimat

Analisis proksimat dilakukan untuk mengetahui kandungan air, protein, lemak dan abu pada kulit ikan tuna sirip kuning. Hasil analisis proksimat dicantumkan pada Tabel 1.

Tabel 1 Komposisi proksimat kulit ikan tuna sirip kuning

Komposisi kimia	Hasil
Kadar air (%)	59,38 ± 1,2
Kadar protein (%)	36,45 ± 0,5
Kadar abu (%)	2,21 ± 0,06
Kadar lemak (%)	1,15 ± 0,09

Kandungan protein kulit tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) lebih besar dibanding dengan kulit ikan tuna albakor yaitu $20,54 \pm 0,26\%$ (Hema *et al.* 2013) dan ikan tongkol $24,63 \pm 0,12\%$ (Komala 2015). Lumbu *et al.* (2015) menyatakan bahwa gelatin merupakan salah satu jenis protein yang terdapat pada kulit dan tulang. Kadar protein yang tinggi pada kulit ikan tuna sirip kuning menunjukkan potensi pengolahan menjadi produk gelatin. Kadar lemak pada kulit ikan tuna termasuk tinggi karena ikan tuna merupakan ikan migrasi, sehingga membutuhkan lemak untuk penyimpanan energi (Sanchez-Zapata *et al.* 2011).

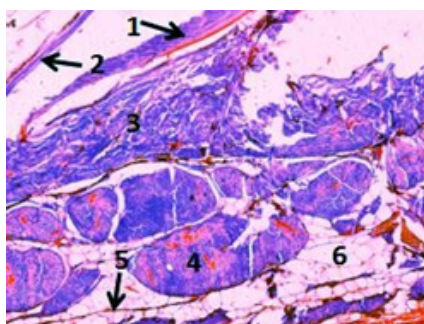
Struktur Jaringan Kulit Tuna Sirip Kuning

Hasil pengamatan histologi pada perbesaran 10x10 dan 40x10 dapat dilihat pada Gambar 1. Berdasarkan Gambar tersebut terbentuk warna biru yang dominan pada kulit ikan tuna sirip kuning. Warna biru berasal dari pewarna aniline blue yang menunjukkan adanya jaringan kolagen, sedangkan *phosphotungstic acid* dan orange G mewarnai sitoplasma dan inti sel.

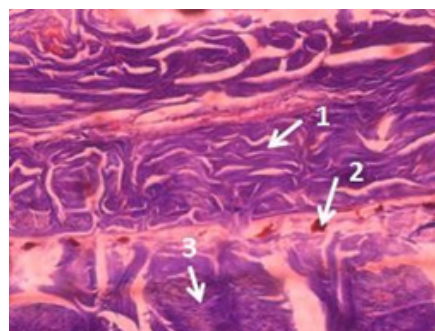
Pengamatan histologi pada kulit ikan tuna sirip kuning dengan pewarnaan *Masson's trichrome* pada perbesaran 10x10 menunjukkan bahwa bagian sisik beserta scale pocket, stratum compactum dan lapisan pertama myomere pada kulit ikan tuna sirip kuning mengandung protein kolagen. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya warna biru pada bagian tersebut. Hasil analisis histologi dengan perbesaran 40x10 menunjukkan bahwa stratum compactum kulit ikan tuna sirip kuning sebagian besar dipenuhi oleh protein kolagen, di bawah lapisan *chromatophore* terdapat jaringan daging dan serat radial pada miomernya juga mengandung kolagen. Lumbu *et al.* (2015) menyatakan bahwa protein kolagen terdapat pada kulit maupun tulang. Bagian diantara myomere terdapat jaringan lemak pada kulit sehingga perlu dilakukan penghilangan lemak dalam pembuatan gelatin.

Rendemen

Rendemen gelatin ikan tuna sirip kuning pada suhu ekstraksi 55, 65 dan 75 °C masing-masing: $5,70 \pm 1,00\%$, $13,36 \pm 2,70\%$ dan $17,00 \pm 1,80\%$. Data tersebut menyebar normal



A



B

Gambar 1 Histologi kulit tuna sirip kuning (A) perbesaran (10x10): 1. Sisik; 2. Scale pocket; 3. Stratum compactum; 4. Miomer; 5. Saluran darah 6. Jaringan lemak; 7. Warna biru kolagen; (B) perbesaran (40x10): 1. Benang Stratum compactum; 2. Chromatophore; 3. Miomer.

($p > 0,05$) berdasarkan analisis Kolmogorov-Smirnov. Hasil analisis ragam ANOVA menunjukkan bahwa perbedaan suhu ekstraksi berpengaruh terhadap rendemen gelatin ($p \leq 0,05$). Nilai rendemen terbesar diperoleh pada suhu ekstraksi 75 °C, nilai tersebut tergolong tinggi jika dibandingkan dengan rendemen kulit nila merah (5,39%) (Jamilah dan Harvinder 2002), kulit kaki ayam boiler (8,74%) (Puspawati *et al.* 2012), kulit kakap merah (9,4%) (Jongjareonrak *et al.* 2006) dan tulang tuna (11,40%) (Nurilmala *et al.* 2006). Perbedaan nilai rendemen gelatin yang dihasilkan disebabkan oleh perbedaan metode ekstraksi, konsentrasi larutan yang digunakan untuk menghilangkan protein non-kolagen dan jenis bahan yang digunakan (Potaros *et al.* 2009).

Hasil pengolahan gelatin kulit tuna sirip kuning memperlihatkan bahwa semakin tinggi suhu ekstraksi gelatin maka rendemen yang dihasilkan semakin tinggi. Sompie *et al.* (2015) menyatakan bahwa tingginya suhu akan membantu memecah ikatan hidrogen dalam gelatin yang terhidrolisis. Ikatan hidrogen gelatin yang makin banyak terputus akan meningkatkan kelarutan kolagen dalam air panas sehingga rendemen gelatin yang dihasilkan makin banyak.

Nilai pH

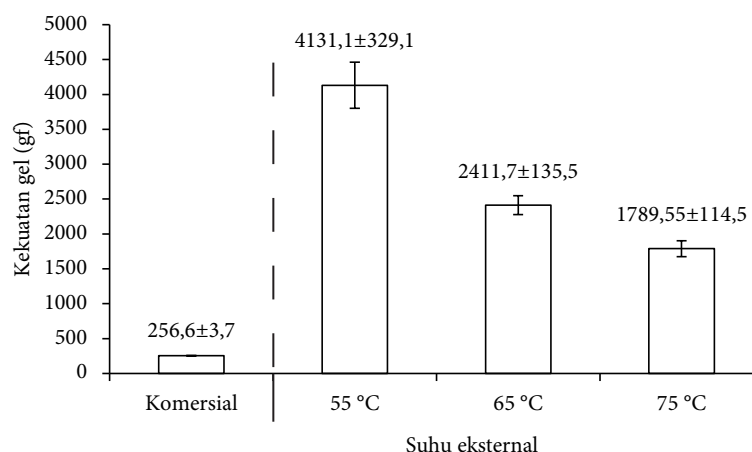
Hasil pengukuran nilai pH gelatin komersial adalah $5,9 \pm 0,1$; gelatin ekstraksi suhu 55 °C adalah $5,4 \pm 0,1$; suhu 65 °C adalah $5,5 \pm 0,2$; serta suhu 75 °C adalah $5,3 \pm 0,1$. Hasil analisis data ragam ANOVA

menunjukkan bahwa suhu ekstraksi tidak berpengaruh terhadap nilai pH gelatin yang dihasilkan ($p \geq 0,05$). Nilai pH diperkirakan hanya dipengaruhi oleh sodium hidroksida, asam asetat dan butanol. Agustine dan Sompie (2015) menyatakan bahwa konsentrasi asam asetat dan reagen lainnya akan mempengaruhi nilai pH sampel.

Nilai pH gelatin dipengaruhi oleh jenis bahan ekstraksi. Ekstraksi gelatin dari ikan bisa dilakukan dengan asam yang akan menghasilkan gelatin tipe A (acid), dengan basa yang menghasilkan gelatin tipe B (basa) atau campuran antara asam dan basa. Proses ekstraksi yang dilakukan pada gelatin kulit tuna sirip kuning ini menggunakan metode campuran asam dan basa sebagai pre-treatment. Zhou dan Regenstein (2005) menyatakan bahwa pembuatan gelatin dengan campuran asam dan basa akan menghasilkan pH yang mendekati netral. Ekstraksi gelatin menggunakan campuran asam dan basa juga menghasilkan nilai kekuatan gel yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi asam saja ataupun basa saja, sebab ekstraksi asam atau basa dapat memecah ikatan rantai polipeptida kolagen menjadi ikatan-ikatan dipeptida atau mono-peptida, sedangkan ekstraksi menggunakan larutan netral atau asam lemah dapat menjaga ikatan rantai polipeptida dari kerusakan tersebut.

Kekuatan Gel

Nilai kekuatan gel gelatin yang dihasilkan berada pada rentang 1789,55-4131,1 gf. Nilai kekuatan gel yang dihasilkan jauh lebih kuat



Gambar 2 Diagram kekuatan gel gelatin kulit tuna sirip kuning pada berbagai suhu ekstraksi

dibanding gelatin komersial yang berkekuatan gel sebesar 256,6 gf. Hal tersebut menunjukkan bahwa gelatin yang dihasilkan dari metode ini memiliki kekuatan gel diatas rata-rata gelatin komersial. Hasil analisis kekuatan gel gelatin dapat dilihat pada Gambar 2.

Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa perbedaan suhu ekstraksi berpengaruh terhadap kekuatan gel gelatin ($p \leq 0,05$). Gambar 2 menunjukkan kecenderungan bahwa meningkatnya suhu ekstraksi menyebabkan penurunan kekuatan gel gelatin. Hal ini diduga karena suhu ekstraksi yang tinggi dapat mendegradasi ikatan molekul protein atau memecahnya menjadi ikatan-ikatan yang lebih pendek. Kittiphattanabawon *et al.* (2016) menyatakan bahwa ikatan molekul protein yang lebih pendek tidak dapat membentuk zona antar persimpangan sehingga menyebabkan ikatan yang lemah pada interaksi hidrofobik atau interaksi ionik.

Kekuatan gel merupakan salah satu aspek yang dibutuhkan untuk menentukan kualitas gelatin. Kekuatan gel gelatin kulit ikan tuna sirip kuning menunjukkan nilai yang lebih tinggi dari gelatin komersial. Hastuti dan Sumpe (2007) menyatakan bahwa mutu gelatin dapat dinilai dari berbagai aspek, antara lain kekuatan gel dan viskositasnya, semakin tinggi nilai kekuatan gel dan viskositas gelatin maka semakin tinggi mutu gelatin tersebut.

Viskositas

Nilai viskositas gelatin berkisar 104,2 - 128,5 cP. Nilai viskositas terendah didapat pada suhu 75 °C, sedangkan nilai tertinggi

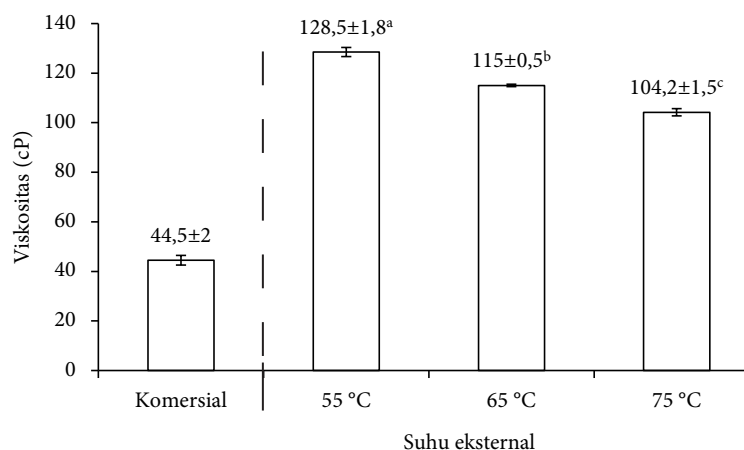
didapat pada suhu 65 °C. Hasil analisis viskositas gelatin pada beberapa tingkat suhu ekstraksi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 3.

Hasil analisis statistik perbedaan suhu ekstraksi berpengaruh terhadap nilai viskositas gelatin ($p \leq 0,05$). Suhu ekstraksi semakin tinggi menyebabkan penurunan nilai viskositas yang menggambarkan berkurangnya hambatan fluida. Hal ini diduga karena tingginya suhu ekstraksi mengakibatkan terjadinya hidrolisis lanjutan pada gelatin. Nurilmala *et al.* (2006) menyatakan bahwa hidrolisis lanjutan akan memutuskan rangkaian asam amino yang berdampak pada rendahnya viskositas. Pemutusan rangkaian asam amino menjadi unit-unit yang lebih kecil menyebabkan gaya yang diperlukan untuk menimbulkan laju geser akan menjadi lebih kecil, sehingga fluida lebih mudah mengalir.

Nilai viskositas yang dihasilkan pada penelitian ini lebih besar dibanding dengan gelatin komersial yang bernilai 44,5 cP. Hal tersebut menunjukkan gelatin tuna yang diproses dengan metode ini baik digunakan untuk industri penstabil makanan, farmasi dan emulsi fotografi (Scrieber dan Garies 2007).

Gugus Fungsional Senyawa Kimia Pembentuk Gelatin

Analisis FTIR dilakukan untuk memastikan produk yang dihasilkan adalah gelatin dengan melihat gugus fungsinya. Puspawita *et al.* (2012) melaporkan daerah serapan khas pada amida A pada gelombang



Gambar 3 Nilai viskositas gelatin pada berbagai suhu ekstraksi

Tabel 2 Karakteristik gugus fungsional gelatin kulit ikan sirip kuning

Daerah serapan	Wilayah serapan gelatin (cm ⁻¹)	Bilangan gelombang puncak serapat (cm ⁻¹)			Dugaan (Puspawita <i>et al.</i> 2012)
		55	65	75	
Amida A	3600-2300	2387,7	2352,98	2339,48	NH bebas Renggangan NH dari gugus amida dengan ikatan hidrogen dan OH dari hidroksiprolina
Amida I	1661-1636	1654,8	1647,08	1653,7	Renggangan C=O dengan kontribusi ikatan NH dan renggangan CN
Amida II	1560-1335	1460	1448,43	1454,22	Renggangan N=O Deformasi NH dengan ikatan CH ₂
Amida III	1300-1200	1245,93	1270,99	1242,06	Struktur unting ganda tiga kolagen

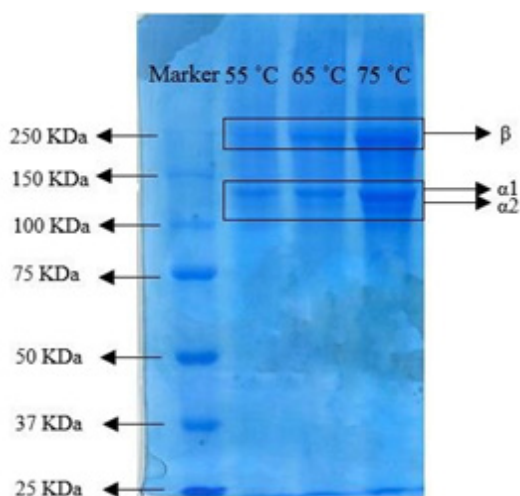
3600-2300 cm⁻¹, amida I pada gelombang 1661-1636 cm⁻¹, amida II pada gelombang 1560-1335 cm⁻¹ dan amida III pada gelombang 1300-1200 cm⁻¹. Karakteristik gugus fungsi gelatin disajikan pada Tabel 2. Gelatin kulit tuna sirip kuning yang dihasilkan dengan suhu ekstraksi 55, 65 dan 75 °C memunculkan puncak serapan amida A berturut-turut pada gelombang 2387,7; 2352,98 dan 2339,48 cm⁻¹. Gugus amida I terlihat pada gelombang berturut-turut 1654,80; 1647,08 dan 1653,70 cm⁻¹. Gugus amida II juga terlihat pada gelombang berturut-turut 1460,00; 1448,43 dan 1454,22. Daerah serapan gugus amida III terlihat pada gelombang berturut-turut 1245,93; 1270,99 dan 1242,06.

Puspita *et al.* (2012) menyatakan bahwa daerah serapan amida A pada gelatin terjadi karena regangan NH dari gugus amida dengan ikatan hidrogen dan asam

amino hidroksiprolina. Daerah serapan amida I menunjukkan keberadaan residu amida pada gelatin. Daerah serapan amida II menunjukkan struktur rantai α berpilin dan asam amino prolina. Gugus amida III berkaitan dengan struktur triple helix (Muyonga *et al.* 2004). Daerah serapan pada gugus amida III mengindikasikan hilangnya struktur triple helix akibat perubahan α -helix menjadi random coil (single helix) disebabkan denaturasi struktur molekul kolagen menjadi gelatin (Nikko *et al.* 2011).

Bobot Molekul

Bobot molekul merupakan parameter penting untuk menilai sifat gelatin. Bobot molekul pada gelatin akan memperlihatkan kemurnian gelatin yang dihasilkan. Hasil SDS-PAGE gelatin kulit ikan tuna sirip kuning dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4 Analisis SDS-PAGE

Tabel 3 Hasil analisis asam amino

Asam amino	Perlakuan suhu ekstraksi (%)			Gelatin tulang ikan tuna*
	55 °C	65 °C	75 °C	
Histidina	0,9	1,0	1,0	0,02
Threonina	3,7	3,7	3,8	2,93
Prolina	11,6	10,4	10,6	12,54
Tirosina	0,5	0,6	0,6	0,11
Leusina	2,7	2,5	2,5	Tidak terdeteksi
Asam Aspartat	3,5	3,0	3,1	5,15
Lisina	3,5	2,8	2,9	1,53
Glisina	27,7	26,4	27,2	23,18
Arginina	10,0	10,4	10,6	8,12
Alanina	8,1	8,1	8,3	10,07
Valina	2,1	2,1	2,1	1,25
Isoleusina	1,2	1,1	1,1	1,03
Fenilalanina	2,6	3,1	3,1	1,96
Asam glutamat	8,2	7,3	7,3	9,47
Serina	4,1	3,9	3,9	1,97

Keterangan: *Nurilmala (2004)

Pola elektroforesis menunjukkan bahwa gelatin mengandung dua rantai α yaitu rantai $\alpha 1$ dan $\alpha 2$. Gelatin yang dihasilkan juga mengandung komponen kimia dengan berat molekul tinggi (*high molecular weight*) yaitu komponen β (α chain dimers). Keberadaan komponen β menunjukkan adanya ikatan silang (*cross-linked*) dalam molekul. Bobot molekul pada gelatin yang diekstraksi pada suhu 55 °C yaitu β (259,302 kDa), $\alpha 1$ (130,659 kDa), $\alpha 2$ (117,274 kDa). Suhu 65 °C memiliki bobot molekul β (250,000 kDa), $\alpha 1$ (129,670 kDa), $\alpha 2$ (116,364 kDa). Ekstraksi dengan suhu 75 °C menghasilkan bobot molekul β (239,476 kDa), $\alpha 1$ (127,703 kDa), $\alpha 2$ (111,930 kDa). Berdasarkan hasil tersebut bobot molekul semakin rendah seiring dengan peningkatan suhu ekstraksi. Hal tersebut menunjukkan suhu yang semakin panas dapat memutuskan ikatan peptide protein menjadi asam amino dengan berat molekul semakin rendah. Faktor yang mempengaruhi pemutusan ikatan peptida antara lain suhu, waktu ekstraksi dan konsentrasi bahan pengeksrak (Jamilah *et al.* 2013).

Jenis Asam Amino Pembentuk Gelatin

Komposisi asam amino setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3. Hasil analisis asam amino gelatin kulit tuna sirip kuning menunjukkan komposisi asam amino dari setiap perlakuan suhu ekstraksi hampir sama. Kittiphattanabawon *et al.* (2016) menyatakan bahwa suhu ekstraksi tidak berpengaruh nyata terhadap komposisi asam amino gelatin. Asam amino utama penyusun gelatin adalah glisina, prolina dan hidroksiprolina (Gimenez *et al.* 2005). Glisina dan prolina adalah asam amino utama penyusun gelatin pada penelitian ini.

Hastuti dan Sumpe (2007) menyatakan bahwa gelatin mengandung 9 dari 10 jenis asam amino esensial yang dibutuhkan tubuh, satu asam amino esensial yang hampir tidak terkandung dalam gelatin yaitu triptopan. Komposisi asam amino tersebut menyebabkan gelatin sebagai bahan yang multi guna dalam berbagai industri. Gelatin bersifat multifungsi, dapat berfungsi sebagai bahan pengisi, pengemulsi (*emulsifier*),

pengikat, pengendap, pemer kaya gizi, pengatur elastisitas, membentuk lapisan tipis yang elastis, membentuk film yang transparan dan kuat, dayacernanya yang tinggi dan dapat diatur, sebagai pengawet, humektan, penstabil, dan lain-lain.

KESIMPULAN

Suhu ekstraksi semakin tinggi menghasilkan rendemen gelatin yang semakin banyak, namun nilai kekuatan gel serta viskositas pada gelatin menurun. Nilai pH gelatin tidak dipengaruhi oleh suhu ekstraksi dimana suhu ekstraksi terbaik yaitu 75 °C. Gelatin memiliki gugus fungsi khas gelatin yaitu amida A, I dan II, dan III. Hasil analisis SDS-PAGE menunjukkan bahwa gelatin kulit ikan tuna sirip kuning memiliki pita β , $\alpha 1$ dan $\alpha 2$. Asam amino utama pembentuk gelatin yaitu asam amino glisina dan prolina yang menjadi salah satu ciri gelatin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat atas pendanaan penelitian melalui hibah kompetitif untuk program Kerjasama Luar Negeri.

DAFTAR PUSTAKA

- Aewsiri T, Benjakul S, Visessanguan W. 2009. Functional properties of gelatin from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin as affected by bleaching using hydrogen peroxide. *Journal Food Chemistry*. 115: 243-249.
- Agustin A T. 2013. Gelatin ikan: sumber, komposisi kimia dan potensi pemanfaatannya. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. 1(2): 44-46.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 1995. Official Method of Analysis. Washington, DC: The Association of Official Analytical Chemist
- Brookfiel Manual. 2002. Installation Qualification, Operation Qualification and Performance Qualification Procedure. Middleborro (USA): Brookfield Engineering Laboratories.
- Eveline, Santoso J, Widjaja I. 2014. Kajian konsentrasi dan rasio gelatin dari kulit ikan patin dan kapa karagenan pada pembuatan jeli. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 11(2): 89-105.
- Fofid S G M. 2014. Ekstraksi dan karakterisasi gelatin dari tulang ikan cobia (*Rachycentron canadum*). [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Gimenez B, Turnay J, Lizarbe M A, Montero P, Gomezz-Guillen. 2005. Use of lactic acid for extraction of fish skin gelatin. *Food Hydrocolloids*. 19: 941-950.
- [GMIA] Gelatin Manufacturers Institute of America. 2012. Gelatin handbook. <http://www.gelatin-gmia.com>
- Hastuti D, Sumpe I. 2007. Pengenalan dan proses pembuatan gelatin. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*. 3(1): 39-46.
- Hema GS, Shyni K, Mathew S, Anandan R, Ninan G. 2013. A simple method for isolation of fish skin collagen-biochemical characterization of skin collagen extracted from Albacore Tuna (*Thunnus alalunga*), Dog Shark (*Scoliodon sorrakowah*), and Rohu (*Labeo rohita*). *Annals of Biological Research*. 4(1): 271-278.
- Hidayat G, Dewi EN, Rianingsih L. 2016. Characteristics of bone gelatin tilapia (*Oreochromis niloticus*) processed by using hydrolysis with phosphoric acid and papain enzyme. *Jurnal Pengolahan hasil Perikanan Indonesia*. 19(1): 69-78.
- Jamilah B, Umi HMR, Mat HD, Sazilli AQ. 2013. Properties of collagen from barramundi (*Lates calcarifer*) skin. *International Food Research Journal*. 20(2): 835-842.
- Jongjaroenrak A, Benjakul S, Visessanguan W, Tanaka M. 2006. Skin gelatin from big eye snapper and brownstripe ren snapper: Chemical compositions and effect of microbial transglutaminase on gel properties. *Journal Food Hydrocolloids* 20: 1216-1222.
- Kiernan JA. 1990. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. Inggris (GB): Pergamon Pr.
- Kittiphattanabawon P, Benjakul S, Sinthusamran S, Kishimura H. 2016. Gelatin from clown featherback skin: Extraction conditions. *Journal Food Science and Technology*. 66: 186-192.

- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2014. Laporan Kinerja Kementerian Kelautan dan Perikanan Tahun 2014. Jakarta (ID): Kementerian Kelautan dan Perikanan
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2015a. Statistik Perikanan Tangkap Menurut Provinsi 2015. Jakarta (ID): Kementerian Kelautan dan Perikanan
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2015b. Analisis Data Pokok Kelautan dan Perikanan 2015. Jakarta (ID): Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Komala AH. 2015. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari kulit ikan tongkol (*Euthynnus affinis*). [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Laemmli U K. 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of head of bacteriophage T4. *Nature*. 277: 680-685.
- Lombu F V, Agustin A T, Pandey E V. 2015. Pemberian konsentrasi asam asetat pada mutu gelatin kulit ikan tuna. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perairan*. 3(2): 25-28.
- Mohtar N F, Perera C, Quek S Y. 2010. Optimisation of gelatine extraction from hoki (*Macruronus novaezelandiae*) skins and measurement of gel strength and SDS-PAGE. *Food Chemistry*. 122: 307-313.
- Muyonga J H, Cole C G B, Duodu K G. 2004. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry*. 85: 81-89.
- Nurilmala M. 2004. Kajian potensi limbah tulang ikan keras (Teleostei) sebagai sumber gelatin dan analisis karakteristiknya. [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Nurilmala M, Wahyuni M, Wiratmaja H. 2006. Perbaikan nilai tambah limbah tulang ikan tuna (*Thunnus* sp.) menjadi gelatin serta analisis fisika-kimia. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*. 9(2): 22-33.
- Nurilmala M, Ushio H, Kaneko G, Ochiai Y. 2013. Assessment of commercial quality evaluation of yellowfin tuna *Thunnus albacares* meat based on myoglobin properties. *Food Science and Technology Research*. 19(2): 237-243.
- Nurrachmawati F. 2015. Mengenal gelatin, kegunaan dan pembuatannya. [Diunduh 2016 Desember 7]. Tersedia pada: <http://kesmavet.ditjenak.pertanian.go.id/>
- Olsen E H, Kanapathipillai P, Berg E, Svineng G, Winberg J O, Hansen L U. 2010. Gelatin in situ zymography on fixed, paraffin-embedded tissue: zinc and ethanol fixation preserve enzyme activity. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 58(1): 29-39.
- Puspawati M N, Simpen I N, Miwada I N S. 2012. Isolasi gelatin dari kulit kaki ayam broiler dan analisis gugus fungsinya menggunakan spektrofotometri FTIR. *Jurnal Chemistry*. 6(1): 79-87.
- Roy VK, Kumar NS, Gurusubramanian G. 2012. Proteins-structure, properties and their separation by SDS-polyacrilamide gel electrophoresis. *Science Vision* 12(4): 170-181.
- Sae-leaw T, Benjakul S, O'Brien N M. 2016. Effects of defatting and tannic acid incorporation during extraction on properties and fishy odour of gelatin from seabass skin. *Food Science and Technology*. 65: 661-667.
- Sanchez-Zapata E, Amensour M, Oliver R, Fuentes-Zaragoza, Navarro C, Fernandez-Lopez, Sendra E, Sayas E, Perez-Alvarez JA. 2011. Quality characteristics of dark muscle from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) to its potential application in the food industry. *Food and Nutrition Sciences*. 1: 22-30.
- Schrieber R, Garies H. 2007. Gelatin Handbook: Theory dan Industrial Practice. Weinheim (DE): WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 1992. 01-2891-1992. Cara Uji Makanan dan Minuman. Jakarta (ID): Badan Standarisasi Nasional.
- Suvik A, Effendy AWM. 2012. The use of modified masson's trichrome staining in collagen evaluation in wound healing study. *Malaysian Journal of Veterinary Research*. 3 (1): 39-47.
- Steel RGD, Torrie JH. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika, Suatu Pendekatan Biometrik; Bambang Sumantri,

penerjemah. Jakarta (ID): Gramedia Pustaka Utama. Terjemahan dari: Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach.

Zhou P, Regenstien JM. 2005. Effects of alkaline and acid pretreatments on alaska pollock skin gelatin. *Journal of Food Science* 70(6): 392-396.